

УДК 576.895.122

© 1993

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ОСВЕЩЕННОСТИ НА БИОЛОГИЮ МИРАЦИДИЕВ *PHILOPHTHALMUS RHIONICA* (TREMATODA)

Г. Л. Атаев

Приводятся результаты изучения влияния температуры и освещенности на процесс выброса зрелых яиц из матки мариты и на вылупление из них мирацидиев *Ph. rhionica*. Установлено, что освещенность в отличие от температуры в этих процессах заметной роли не играет. Температура также определяет продолжительность жизни личинок и скорость их передвижения во внешней среде, оказывает определенное воздействие и на инвазионную способность мирацидиев, которая возрастает с нагреванием среды.

Полученные данные не подтвердили утверждения Семенова (1977) о том, что при совокупном воздействии светового и температурного факторов свет оказывает более сильное воздействие на процесс заражения моллюсков *Melanopsis praemorsa*.

Подробным исследованием биологии мирацидиев *Philophthalmus rhionica* Olenov, Tichomirov, 1976 (Trematoda) занимался Семенов (1977; 1979; 1980, и др.). Он детально описал поведение личинок во внешней среде и высказал ряд предположений относительно механизмов, обеспечивающих встречу личинок с моллюском. Тем не менее некоторые вопросы, связанные с биологией мирацидиев, остались либо вовсе не решенными, либо требующими дополнительных исследований. Прежде всего это касается влияния температуры и освещенности на динамику вылупления мирацидиев и их инвазионную способность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моллюски *Melanopsis praemorsa* L. были собраны в реках Западной Грузии в 1986 г.

В лабораторных условиях вышедшими церкариями были заражены голуби (по: Тихомиров, 1980). Обычным местом обитания марит *Ph. rhionica* является инфраорбитальная область глаза. Для получения мирацидиев мариты извлекались пинцетом и помещались в солонку с отстоянной водопроводной водой (рН 5.7). При этом из матки мариты выбрасывается большое количество яиц, из которых впоследствии вылупляются мирацидии.

Через сутки с момента помещения в стаканчик с мирацидиями моллюски были вскрыты. Факт заражения моллюсков устанавливали по наличию молодых материнских редий в сердце и начальном участке главных аорт, являющихся местом их окончательного поселения (для достижения области сердца материнской редии требуется около часа) (Атаев, Добровольский, 1990). Гистологический контроль осуществлялся при просмотре полутонких срезов толщиной 1 мкм, окрашенных по Маллори азур-фуксином и толуидиновым синим. Материал фиксировался в течение 8—10 ч в смеси 4%-го параформа на какодилатном буферном растворе по Берстону (1965) (рН 7.35) при 4°. После обезвоживания материал заливался в эпонаралдит.

Эксперименты по изучению влияния температуры на биологию мирацидиев проводились в термостате «ТС-80 М-2» со снятой металлической дверцей. Определенный режим освещения задавался в специально изготовленном боксе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выброс яиц и вылупление мирацидиев. В ходе наблюдений выяснилось, что освещенность не оказывает заметного влияния ни на выброс из матки марит яиц, ни на вылупление из них мирацидиев. В то же время опыты показали, что одним из решающих факторов в этом процессе является температура.

16 80-дневных марит (выращенных в одном голубе) были помещены в 4 солонки с водой разной температуры: 5, 12, 19, 28°. Наблюдений при более высокой температуре (температуре инфраорбитальной области глаза дефенитивного хозяина) не проводилось. Это связано с тем, что выброс яиц из матки возможен только при контакте с водой (при изменении осмотического давления среды: Семенов, 1977), что обязательно приведет к определенному охлаждению мариты. При 5° выброс яиц не зарегистрирован. При 12° массового выброса не наблюдалось. Лишь через 8—15 мин после помещения в воду из червей выходили единичные яйца. При температуре 19 и 28° массовый выброс яиц отмечался через 1—3 мин с начала опыта.

Вылупление мирацидиев из яиц изучалось по сходному плану. В солонки было помещено по 200 яиц, только что выброшенных 60-дневными маритами. В ходе 3-часового наблюдения была установлена полная зависимость процесса вылупления мирацидиев от температуры среды (табл. 1).

При 5° вылупления мирацидиев не зарегистрировано на протяжении всего опыта. При последующем помещении яиц в комнатную температуру (18°) выход первых личинок зарегистрирован через 10—12 мин. Еще через 10—15 мин начался их массовый выход.

Продолжительность жизни мирацидиев. Семеновым были получены данные о продолжительности жизни мирацидиев *Ph. rhionica*: средняя — 6, максимальная — более 10 ч (Семенов, 1991). Эти данные соответствуют нашим, полученным при комнатной температуре (18—20°). Для изучения зависимости продолжительности жизни мирацидиев от температуры был поставлен эксперимент на личинках, вылупившихся из яиц, выброшенных одновозрастными (70-дневными) маритами, развивающимися в одном хозяине — голубе. Опыт проводился одновременно при разных температурах: 6, 18, 30, 36—37° (табл. 2).

Выяснилось, что при 6° мирацидии скапливаются у дна стаканчика, передвигаются медленно, часто останавливаются и подолгу лежат на дне, медленно шевеля ресничками. Уже через 2 ч только единичные мирацидии совершают сколько-нибудь заметные перемещения. Тем не менее до гибели большинства личинок проходит еще 3—5 ч.

Таблица 1

Зависимость вылупления мирацидиев *Philophthalmus rhionica* от температуры
The dependence of miracidia *Philophthalmus rhionica* hatching from the temperature

	Температура (°)				
	5	11	18	30	36
Начало массового вылупления мирацидиев (мин)		18.5±1.4	2.8±0.3	1.4±0.2	0.9±0.1
Вылупляемость (%)		16	80	87	98

Примечание. Здесь и в табл. 2: достоверное отклонение от контроля, $P < 0.1$.

Т а б л и ц а 2

Зависимость продолжительности жизни мирацидиев *Philophthalmus rhionica* от температуры
The dependence of miracidia *Philophthalmus rhionica* length life from the temperature

	Температура (°)			
	6	18	30	36
Средняя продолжительность жизни мирацидиев (часы)	6.2±0.3	5.5±0.1	4.2±0.2	1.9±0.1
Период активного плавания мирацидиев (часы)	<2	<0.3	<3	<1.2

При 18° продолжительность жизни мирацидиев не превышает, как правило, 5—6 ч. Но активны личинки только в первые 30—40 мин после вылупления. Затем скорость их передвижения заметно снижается и в дальнейшем они делают все более продолжительные остановки.

При 30° мирацидии активно плавают в течение 2—3 ч, почти постоянно находясь у поверхности воды. Затем наблюдается массовое опускание мирацидиев на дно, и через 4—4.5 ч после вылупления в живых остаются лишь единичные личинки.

При 36—37° активное передвижение мирацидиев наблюдается в течение 0.9—1.2 ч, а максимальная продолжительность жизни личинок при этой температуре сокращается до 2.1 ч.

Инвазионная способность мирацидиев. Важность роли температурного фактора в жизни мирацидиев указывает на возможность его воздействия и на инвазионную способность личинок. Для получения экспериментальных данных по этому вопросу 200 моллюсков (с высотой раковины 20—22 мм) были разделены на 4 равные группы. Каждый моллюск заражался 5 мирацидиями. При этом заражение 1-й группы проходило при 4—5°, 2-й — при 10, 3-й — при 18—19, 4-й — при 30°.

Через 22 дня моллюски были вскрыты. Выяснилось, что при 4—5° заражения моллюсков не произошло. При 10° экстенсивность инвазии не превышала 25 %. При 18° она составила 86 %, но только в 3 особях обнаружено по 5 материнских редий. При 30° экстенсивность заражения достигла 94 % (по 5 материнских редий найдено в 7 моллюсках этой группы).

Выше уже сообщалось, что зависимости между освещенностью и продолжительностью вылупления мирацидиев не установлено. Не обнаружено также какой-либо зависимости от условий освещенности времени активного плавания и продолжительности жизни мирацидиев. Эти данные не противоречат результатам Семенова (1977), определяющим свет как важнейший регулятор в процессе поиска мирацидием моллюска-хозяина.

Уже до начала работы представлялось спорным утверждение Семенова о том, что у мирацидиев *Ph. rhionica* под влиянием специфических химических веществ, выделяемых моллюсками *M. praemorsa*, не только вступает в действие хемотаксис, но и происходит смена знака фототаксиса на отрицательный (Семенов, 1979). Согласно его трактовке личинки уходят в ближайшую затененную зону, которой «может оказаться прикрытый раковинной участок тела моллюска». Отсюда делается вывод: «Моллюски на свету не заражаются. . .» (Семенов, 1977). Вероятно, имелось в виду, что освещенные участки тела улитки не привлекают мирацидиев. Для проверки такого утверждения был выполнен следующий эксперимент.

60 незараженных моллюсков (высота раковины 15—19 мм) были разделены на 3 равные группы. Моллюски 1-й группы заражались мирацидиями *Ph. rhionica* в темноте. Моллюски 2-й группы были помещены на время заражения в стаканчики, изготовленные из непрозрачного материала. Свет, величина

которого в течение опыта составляла 400—600 lx, в такие сосуды мог попасть только сверху. Благодаря этому раковины моллюсков отбрасывали заметную тень. Прозрачные стаканчики с моллюсками 3-й группы во время заражения равномерно освещались со всех сторон (суммарная освещенность составляла 5300 lx). Такое перекрестное освещение должно было препятствовать образованию тени от раковины. С этой же целью удалялся край последнего витка раковины. Моллюски всех 3 групп заражались по 5 мирацидиев в течение 7 ч.

Через 20 дней моллюски были вскрыты. В 1-й и 3-й группах обнаружено по одному незараженному моллюску, во 2-й группе — 2 особи. При этом не было выявлено достоверного различия в интенсивности инвазии моллюсков в зависимости от условий их освещенности во время заражения (экспериментальное значение критерия Вилкоксона—Манна—Уитни для уровня значимости, $P < 0.01$ и объема выборки, $n = 20$ составило: для 1-й и 2-й групп — 164, для 2-й и 3-й — 158, для 1-й и 3-й групп — 200) (Лакин, 1990).

ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние температуры на биологию мирацидиев. О продолжительности жизни мирацидиев в литературе имеются различные сведения. Даже для одних и тех же видов разными авторами зачастую приводятся различные данные. Гинецинская (1968) объясняет такую противоречивость «нестандартными условиями проведения опытов». У разных видов продолжительность жизни мирацидиев зависит от влияния различных абиотических факторов (освещенность, рН среды, содержание в ней кислорода и пр.). Особенно заметное влияние на длительность жизни личинок оказывает температура окружающей среды. Как правило, при более высокой температуре продолжительность жизни мирацидиев снижается (Oliver, Short, 1956; Purnell, 1966; Prah, James, 1977). Гинецинская объясняет это тем, что нагревание стимулирует подвижность личинок, а это приводит к более интенсивному расходованию гликогена, являющегося основным источником энергии.

Продолжительность жизни мирацидиев *Ph. rhionica*, как показали наши исследования, также зависит от температуры окружающей среды. В связи с этим интересна зависимость инвазионной способности мирацидиев от температуры. С одной стороны, с нагреванием окружающей среды уменьшается продолжительность жизни личинок, а с другой — заметно увеличивается их активность. Целый ряд исследователей считают, что среди абиотических факторов температура оказывает наибольшее влияние на процесс заражения моллюска мирацидиями (Гинецинская, 1960, 1968; Stirewalt, 1954; Campbell, 1961, и др.). Во всех работах отмечается наличие прямой зависимости между нагреванием среды и увеличением экстенсивности инвазии улиток.

Значения температуры, ниже которой заражение моллюсков не регистрируется, для большинства изученных в этом отношении видов обычно не превышают 5—10° (в основном изучались южные формы). Некоторые мирацидии теряют инвазионную способность и при более высокой температуре. Например, заражение моллюсков мирацидиями *S. mansoni* и *S. haematobium* не происходит уже при 15° (De Witt, 1955; Prah, James, 1977).

Сложнее определить верхнюю границу температурного диапазона, при котором возможно заражение моллюска. В некоторых случаях нагревание среды до температуры, при которой гибнут заражаемые моллюски, приводит лишь к повышению активности мирацидиев. Те же мирацидии *Sch. mansoni* наиболее активны при 40° — при температуре, губительной для моллюсков *Austroorbis glabratus* (De Witt, 1955; Purnell, 1966). Подобная ситуация наблюдается и в нашем случае: повышение температуры воды до 38° вызывает скорую гибель моллюсков *M. praemorsa* (Атаев, 1991), а мирацидии *Ph. rhionica* в этих условиях активно передвигаются по всему объему стаканчика в течение 0.9—1.2 ч.

Наиболее благоприятной для заражения моллюсков мирацидиями *Ph. rhionica* является температура 24—33°. В этом интервале экстенсивность и интенсивность инвазии улиток остаются примерно на одном уровне. В то же время, как сообщалось выше, в пределах этого же диапазона продолжительность жизни и активность личинок заметно меняется. Возможно, что сокращение длительности жизни мирацидиев при нагревании компенсируется в этом температурном интервале повышением активности личинок.

У других видов зависимость инвазионной способности от температуры окружающей среды может быть более выражена. Так, на заражаемость моллюсков — хозяев *Sch. mansoni* влияет даже изменение температуры на 2—3° (Stirewalt, 1954).

При обсуждении полученных результатов следует также учитывать, что условия проведения экспериментальных наблюдений в большей степени приближены к условиям стоячих водоемов — луж, прудов и пр. В то же время моллюски *M. praemorsa* являются обитателями ручьев и рек со средним и быстрым течением. В таких условиях для успешного нахождения и заражения моллюска мирацидия должны быть особенно активны. Поэтому возможно, что в природных условиях инвазионность личинок данного вида еще в большей степени зависит от температуры окружающей среды, чем в лабораторных условиях.

Влияние освещенности на биологию мирацидиев. Освещенность согласно полученным результатам не играет заметной роли в процессе вылупления мирацидиев *Ph. rhionica* из яиц, в отличие от многих других видов: *Fasciola hepatica* (Leuckart, 1879); *Apharyngostigea cornu*, *Cyclocoelum microstomum* (Гинецинская, 1954; 1960); *Posthodiplostimum cuticola* (Владимиров, 1961) и др.

Освещенность может также влиять на продолжительность жизни мирацидиев *F. hepatica*, *S. mansoni* (Dwargonat, 1966; Prah, James, 1977). По мнению Гинецинской (1968), это обусловлено активизацией личинок на свету, которая вызывает более интенсивное расходование гликогена, что, в свою очередь, приводит к сокращению длительности жизни мирацидиев. Подвижность мирацидиев *Ph. rhionica* определяется главным образом температурой окружающей среды. Фактор освещенности, если и активизирует личинок, то лишь в незначительной степени и заметного влияния на продолжительность их жизни не оказывает.

Наши данные не подтвердили решающей роли условий освещения и непосредственно в самом процессе заражения мирацидиями *Ph. rhionica* моллюска. В экспериментальных условиях наблюдалось успешное заражение моллюсков при разных значениях освещенности, в том числе в полной темноте. Такие результаты не противоречат отмеченной другими авторами важности фактора освещенности в сложном поведении мирацидиев *Ph. rhionica* (Семенов, 1977, 1991; Гинецинская, Добровольский, 1983). Но они позволяют, на наш взгляд, утверждать, что на заключительном этапе (после нахождения моллюска-хозяина) поведение мирацидия определяется не световым градиентом, а другими факторами. Возможно, важная роль в этом процессе принадлежит положительному хемотаксису личинок на вещества, выделяемые в окружающую среду моллюсками.

Список литературы

- Атаев Г. Л. Влияние температуры на развитие и биологию редий и церкарий *Philophthalmus rhionica* Olenov, Tichomirov, 1976 (Plathelminthes, Trematoda) // Паразитология. 1991. Т. 25, вып. 4. С. 349—359.
- Атаев Г. Л., Добровольский А. А. Динамика размножения микрогемипопуляции партенит трематод *Philophthalmus rhionica* Olenov, Tichomirov, 1976 // Паразитология. 1990. Т. 24, вып. 6. С. 499—508.

- Берстон М. Гистохимия ферментов. М., 1965. 315 с.
- Гинецинская Т. А. О значении таксисов в жизнедеятельности церкариев // ДАН СССР. 1954. Т. ХСVII, вып. 2. С. 369—372.
- Гинецинская Т. А. Гликоген в теле церкариев и зависимость его распределения от их биологии // ДАН СССР. 1960, 135, 4. С. 1012—1015.
- Гинецинская Т. А. Трематоды, их жизненный цикл, биология и эволюция. Л.: Наука, 1968. 410 с.
- Гинецинская Т. А., Добровольский А. А. Свободноживущие и паразитические беспозвоночные: Морфология, биология, эволюция // Тр. БНИИ. Л. 1983. Т. 34. С. 112—157.
- Владимиров В. Л. Морфология и биология мирацидия *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1823) Dubois, 1936 — возбудителя чернопятнистой болезни рыб // ДАН СССР. 1961. Т. 140, вып. 6. С. 1473—1476.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1990. 352 с.
- Семенов О. Ю. Экспериментальное изучение биологии мирацидия *Philophthalmus rhionica* Tichomirov: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1977. 20 с.
- Семенов О. Ю. Реакция мирацидиев *Philophthalmus rhionica* (Trematoda, Philophthalmidae) на свет // Паразитология. 1979. Т. 13, вып. 6. С. 620—627.
- Семенов О. Ю. Новые представления о функционировании системы мирацидий-моллюск // Вопросы паразитологии водных беспозвоночных животных. Вильнюс, 1980. С. 94—96.
- Семенов О. Ю. Мирацидии. Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. 204 с.
- Тихомиров И. А. Жизненный цикл *Philophthalmus rhionica* sp. nov. (Trematoda: Philophthalmidae): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1980. 20 с.
- Campbell W. G. Notes on the egg and miracidium of *Fascioloides magna* (Trematoda) // Trans. Amer. Micr. Soc. 1961. Vol. 80, N 3. P. 308—319.
- De Witt W. B. Influence of temperature on penetration of snail hosts by *Schistosoma mansoni* miracidia // Exper. Parasitol. 1955. Vol. 4. P. 271—276.
- Dwaronath A. Untersuchungen über ectogene Helminthenstadien 3. Experimentelle Untersuchungen über die Lebensdauer der Mirazidien von *Fasciola hepatica* unter Berücksichtigung verschiedener äusserer Einflüsse // Angewandte Parasitologie. 1966. Bd 7. S. 31—38.
- Leuckart R. The parasites of Man. Edinburgh. 1879. Vol. 1. 771 p.
- Oliver J. H., Short R. B. Longevity of miracidia of *Schistosomatium douthitii* // Exper. Parasitol. 1956. Vol. 5. P. 238—249.
- Prah S. K., James C. The influence of physical factors on the behaviour and infectivity of miracidia of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. II. Effect of light and depth // Journ. of Helminthol. 1978. Vol. 52. P. 115—120.
- Purnell R. E. Host-parasite relationships in schistosomiasis I. — The effect of temperature on the infection of *Biomphalaria sudanica tanganyicensis* with *Schistosoma mansoni* miracidia and of laboratory mice with *Schistosoma mansoni cercariae* // Annals of Tropical Medicine and Parasitology. 1966. Vol. 60, N 1. P. 60—93.
- Stirewalt M. A. Effect of snail maintenance temperatures on development of *Schistosoma mansoni* // Exp. Parasitol. 1954. Vol. 3, N 6. P. 504—516.

Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Поступила 29.09.1991

THE TEMPERATURE AND ELUMINATION INFLUENCE ON THE BIOLOGY OF PHILOPHTHALMUS RHIONICA MIRACIDIA

G. L. Ataev

Key words: miracidium, mollusk, temperature, elumination

SUMMARY

The influence of temperature and elumination on the process of mature eggs production from the uterus of adults of *Philophthalmus rhionica* and on the hatching of miracidia has been investigated. Elumination in contrast to the temperature does not play a great role. The temperature factor also defines the larvae duration life and the velocity of their swimming and has some influence on the invasibility of miracidia, which is enhanced with heating.

The data received does not confirm the position of Semenov (1977) that in the presence of simultaneous influence of light and temperature the influence of the former factor upon the infection of the fresh-water mollusk *Melanopsis praemorsa* is more significant.